

細胞移入実験系によるFasリガンド差異マウスにおけるループス腎炎の解析

著者	伊藤 美津子
号	1341
発行年	1997
URL	http://hdl.handle.net/10097/21388

氏 名 (本籍) 伊 藤 美 津 子

学 位 の 種 類 博 士 (医 学)

学位記番号 医博第 1341 号

学位授与年月日 平成 9 年 3 月 25 日

学位授与の条件 学位規則第4条第1項該当

研 究 科 専 攻 東北大学大学院医学系研究科
(博士課程) 内科学系専攻

学位論文題目	Analysis of lupus nephritis in mice with a deficit in functional Fas ligand by cell transfer system. (細胞移入実験系による Fas リガンド差異マウスにおけるループス腎炎の解析)
--------	---

(主 査)

論文審査委員 教授 阿 部 圭 志 教授 佐々木 毅

教授 名 倉 宏

論文内容要旨

【目 的】

本研究では、MRL系マウスをモデルとし、ループス病変、主にループス腎炎に関わる細胞起源の解明を目的とした。そのため、Fas リガンド変異遺伝子, *gld* を MRL 系マウスに導入したマウス MRL/MpTn-*gld/gld* (MRL/*gld*) のループス病変を解析し、また正常マウスへの細胞移入実験系の確立を通じて、ループス病変発症における Fas 介在性アポトーシス不全の役割とその責任細胞について解析した。さらに、この MRL/*gld* マウスよりループス腎炎原性抗体産生 B 細胞ハイブリドーマを樹立し、腎炎原性抗体産生 B 細胞の起源とその clonality を解析した。

【方 法 と 結 果】

(1) MRL/*gld* マウスのループス病変の解析 : MRL/*gld* マウスの病態・病理を解析した。その結果、T 細胞、B 細胞、マクロファージの Fas 抗原発現の強発現を伴って、MRL/*lpr* マウス同様に、免疫グロブリンの沈着を伴う糸球体腎炎ならびに肉芽腫性動脈炎、関節炎などのループス病変を認め、これらの病変が Fas 介在性アポトーシスの不全により誘導されることを明らかにした。

(2) 骨髓キメラ [MRL/*gld*→MRL/+, C3H/+] におけるループス病変の再構築 : 骨髓キメラ [MRL/*lpr*→MRL/+] では GVH 様反応が起こり、ループス病変の移入は不可能であったが、この MRL/*gld* 骨髓細胞をドナーとする [MRL/*gld*→MRL/+] において、ループス腎炎、血管炎の移入に成功した。一方、[MRL/*gld*→C3H/+] では、ループス腎炎のみを発症したことから、腎炎発症は MRL/*gld* 骨髓細胞のみで誘導されうるが、血管炎発症にはレシピエントに MRL 系マウスの背景遺伝子が必要であることを明らかにした。また、[C3H/*gld*→MRL/+] では、ループス病変は発症せず、ループス病変を誘導するポテンシャルは MRL 骨髓細胞が有するが、C3H 骨髓細胞は有さないことを示した。

(3) 骨髓混合キメラにおけるループス腎炎の発症 : MRL/*gld* マウスのループス腎炎の責任細胞が、Fas 介在性アポトーシスの回避を前提としているか否かを調べるために、MRL/*gld* 骨髓細胞を、無処置のレシピエント・マウスに移入することで骨髓混合キメラを作製した。その結果、腎炎の発症は、ドナー細胞が Fas 介在性アポトーシスを受けない [MRL/*gld*→C3H/*gld*] では誘導され、一方、レシピエントが正常の FasL を持ち、ドナー細胞が Fas 介在性アポトーシスを受けうる [MRL/*gld*→MRL/+, C3H/+] では病変は誘導されなかった。これらから、ループス腎炎発症には、MRL 系骨髓細胞の Fas 介在性アポトーシスの回避が必要十分であることが明

らかとなった。

(4) MRL/gld B細胞ハイブリドーマによるループス腎炎の発症：これらのキメラ実験におけるループス腎炎の発症には、血清 IgG3 の上昇を伴っていたことから、以前私達が MRL/lpr マウスにおいて明らかにしたと同様、これらのループス腎炎を惹起する B細胞は IgG3 産生細胞であると考えられた。そこで、腎炎発症月齢の MRL/gld マウスから IgG3 単クローン抗体産生ハイブリドーマを作成した。これら 23 クローンを SCID マウスに移入したところ、8 クローンが糸球体腎炎を誘導し、しかも一部のクローンは他のクローンと組織型の異なる糸球体病変を誘導した。これらの腎炎原性抗体産生 B細胞とクローンの起源を知る目的で、免疫グロブリン遺伝子重鎖の可変領域の塩基配列の解析を決定した結果、これらの B細胞はそれぞれ異なる前駆 B細胞に由来することが明らかとなった。

【結 論】

(1) MRL/gld マウスのループス腎炎に関わる細胞起源は MRL 系背景遺伝子を有する骨髓細胞であり、*gld* 遺伝子は、Fas 介在性アポトーシスの不全を誘導することにより、この骨髓由来細胞の long-survival に関与する。一方、血管炎の発症には、これらに加えて、血管構成細胞を含めた MRL 系背景遺伝子の関与を必要とする。

(2) MRL/gld 骨髓細胞に由来する腎炎原性 IgG3 抗体産生 B細胞クローンの起源は、multi-clonal に発生、分化する。

審 査 結 果 の 要 旨

細胞のアポトーシスの誘導は、生体における自己反応性細胞の排除や免疫反応の収束を保持する上で重要で、臨床上是自己免疫疾患を抑制することが考えられる。このようなアポトーシスを誘導する系として Fas と Fas リガンド (FasL) の結合が注目されてきた。最近、MRL 系マウスから全身性リンパ節腫脹を来した突然変異として樹立された MRL/lpr マウスの lpr 遺伝子がこの Fas の deletion mutant であり、C3H 系マウスに同様の全身性リンパ節腫脹を来した突然変異マウス C3H/gld の gld 遺伝子が、FasL 遺伝子の点変異であることが証明された。従って、これらのマウスは、Fas, FasL の異常が免疫系に及ぼす影響を、生体内で解析する上での重要なモデルとされている。

実際、MRL/lpr マウスは、種々の自己免疫現象の発現を伴って、糸球体腎炎や血管炎、関節炎などを発症し、その病態・病理像がヒト SLE に類似するところから、ループス病変のモデルマウスとして広く研究されており、Fas 異常がループス病変と関係づけられる根拠ともなっている。しかし、lpr 遺伝子が Fas 異常を来して、これらの疾患の原因遺伝子となることが考えられるものの、lpr 遺伝子を他の系統のマウスに導入しても、ループス病変は発症しない。さらに、FasL 遺伝子異常を来す C3H/HeJ-gld/gld マウスもループス病変を発症しない。従って、現在までのモデルによる研究では、ループス病変の発症機構について MRL 系マウス固有の背景遺伝子を有する細胞が重要な働きをしているものと推定されてきたが、Fas の異常と関連づけるには十分な説明が得られていなかった。

本研究では、gld 遺伝子を MRL 系マウスに移入して、MRL/gld マウスを樹立し、このマウスが MRL/lpr マウス同様のループス病変を発症することを見いだした。一般的に、疾病発症個体の疾患を正常個体に移入する実験系は、疾患発症における責任細胞や分子を同定、確認するための有力な手段となる。しかし、従来の lpr/lpr マウス細胞を移入する系では、GVH 様反応が生じるため、解析することができなかった。これに対して、MRL/gld マウスを用いることにより、そのループス病変の細胞移入実験系が確立でき、ループス病変発症機序の新たな展開が期待できるようになった。筆者の研究では、このような独自に樹立した FasL 変異 MRL 系マウスを用いることで、ループス病変発症の責任細胞の同定と、その中での Fas 介在性アポトーシスの不全の意義を明らかにした。さらに、腎炎原性抗体産生 B 細胞が multi-clonal であるという事実を示した。これらは、いずれもループス病変の病理発生を解析する上での独創的なアプローチであり、ヒト・ループス腎炎の発症機序の解明にも重要な概念を提示するものとして、世界的にも注目されている。よって、本論文は十分学位に値するものと思われる。